

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/005170

International filing date: 22 March 2005 (22.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-080950
Filing date: 19 March 2004 (19.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 28 April 2005 (28.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2004年 3月19日

出願番号
Application Number: 特願2004-080950

パリ条約による外国への出願に用いる優先権の主張の基礎となる出願の国コードと出願番号
The country code and number of your priority application, to be used for filing abroad under the Paris Convention, is

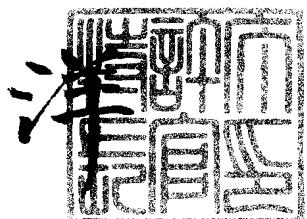
出願人
Applicant(s): チツソ株式会社
藤森工業株式会社

J P 2004-080950

2005年 4月13日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願
【整理番号】 P-C40285
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 C07K 14/745
【発明者】
【住所又は居所】 東京都中央区日本橋馬喰町一丁目4番16号 藤森工業株式会社
本社内
【氏名】 細川 和也
【発明者】
【住所又は居所】 東京都中央区日本橋馬喰町一丁目4番16号 藤森工業株式会社
本社内
【氏名】 鹿島 甲介
【特許出願人】
【識別番号】 000002071
【氏名又は名称】 チツソ株式会社
【特許出願人】
【識別番号】 000224101
【氏名又は名称】 藤森工業株式会社
【代理人】
【識別番号】 100100549
【弁理士】
【氏名又は名称】 川口 嘉之
【選任した代理人】
【識別番号】 100090516
【弁理士】
【氏名又は名称】 松倉 秀実
【選任した代理人】
【識別番号】 100089244
【弁理士】
【氏名又は名称】 遠山 勉
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 192372
【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲

【請求項 1】

野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビン基質結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。

【請求項 2】

野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、ヒルジンC末端ペプチド結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。

【請求項 3】

野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。

【請求項 4】

野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、0.1MのNaClを含むpH7.4の50mMトリス塩酸中でトロンビン蛋白質基質と37℃で3時間反応させたときに分解されるトロンビン基質の割合が10%以下であるトロンビン誘導体。

【請求項 5】

野生型トロンビンのアミノ酸配列においてB鎖の205番目のセリン、並びに、203番目のグリシン及び99番目のアスパラギン酸のいずれか一方又は両方のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

【請求項 6】

前記205番目のセリンがアラニン、スレオニン又はグリシンのいずれかに置換されたアミノ酸配列を有する、請求項5に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 7】

前記205番目のセリンがグリシンに置換されたアミノ酸配列を有する、請求項5に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 8】

前記203番目のグリシンがアラニン、スレオニン又はセリンのいずれかに置換されたアミノ酸配列を有する、請求項5～7のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 9】

前記99番目のアスパラギン酸がアスパラギンに置換された、請求項5～8のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 10】

さらに、B鎖の43番目のヒスチジンが他のアミノ酸に置換された、請求項5～9のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 11】

さらに、ナトリウム結合部位のアミノ酸が置換された、請求項5～10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 12】

ナトリウム結合部位のアミノ酸がB鎖の232番目又は234番目のアスパラギン酸である、請求項11に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 13】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、ヒルジンC末端ペプチド結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である、請求項5～12のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項 14】

野生型トロンビンがヒト野生型トロンビンである、請求項1～13のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項15】

ヒト野生型トロンビンが配列番号2のアミノ酸配列を含む蛋白質である、請求項14に記載のトロンビン誘導体。

【請求項16】

カルボキシル基が修飾された請求項1～15のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

【請求項17】

カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾された請求項16に記載のトロンビン誘導体。

【請求項18】

請求項1～15のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体をコードするDNA。

【請求項19】

請求項1～17のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体を含有する医薬組成物。

【請求項20】

抗血栓剤である、請求項19に記載の医薬組成物。

【請求項21】

抗炎症剤である、請求項19に記載の医薬組成物。

【請求項22】

トロンビンレセプター活性化抑制剤である、請求項19～21のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【書類名】明細書

【発明の名称】トロンビン誘導体、およびそれを含有する医薬組成物

【技術分野】

【0001】

本発明は、トロンビン誘導体、およびそれを含有する医薬組成物、特に抗血栓剤、抗炎症剤に関する。

【背景技術】

【0002】

トロンビンは血小板凝集反応や炎症反応などを担う、トリプシンと非常に相同意の高いトリプシン様のセリンプロテアーゼである。例えば、非特許文献1には、トロンビンが、基質であるトロンビンレセプターを活性化することによって血小板凝集反応や炎症反応を起こすことが記載されている。

【0003】

トロンビンの生理的作用に関しては以下の様な報告がなされている。非特許文献2には、トロンビンの主だった血液凝固に関する基質認識にエクソサイトI領域が重要な働きをすることが記載されている。さらに、非特許文献3には、トロンビン基質蛋白質（以下トロンビン基質）結合能を有した不活性化トロンビンが野生型トロンビン同様にエクソサイトI結合性のトロンビン基質に高い結合能を持つこと、ベンズアミジン等の活性中心へ立体障害となる物質の添加によりその結合能が失われることが記載されている。また、非特許文献4には、トロンビンなどのセリンプロテアーゼは、活性中心にセリン、ヒスチジン、アスパラギン酸を有しており、この3アミノ酸のチャージリーシステムによりプロテアーゼ活性が発現され、セリンプロテアーゼのミカエリス複合体から4面複合体への進展にはグリシン193（193はトリプシン番号、トロンビンではB鎖 グリシン203にあたる）が関与していることが記載されている。

【0004】

これらをもとに、抗血栓剤等の開発のために、様々なトロンビンの修飾・改変が試みられている。特許文献1には、セリンプロテアーゼと競争してセリンプロテアーゼの基質に結合することによって、該セリンプロテアーゼと該基質との反応を抑制する物質（以下「反応抑制物質」と言うことがある）を含有するセリンプロテアーゼ抑制剤が開示されている。さらに該文献には、このセリンプロテアーゼ抑制剤は、抗血栓剤（血栓形成抑制剤）として有効であることが記載されている。該文献には、該反応抑制物質の具体例として、セリンプロテアーゼであるトロンビンと、フェニルメチルスルフォニルフルオリド（以下「PMSF」と言うことがある）などの阻害剤とを反応させ、活性部位に存在するセリンをデヒドロアラニンに転換すること（以下「アンヒドロ化」と言うことがある）により、セリンプロテアーゼ活性が著しく低下したトロンビン誘導体（以下「AHT」と言うことがある）が開示されている。

【0005】

また、特許文献2には、アンヒドロトロンビンのカルボキシル基とイミドとを反応させ、アンヒドロトロンビンを化学的に修飾したアンヒドロトロンビン誘導体（以下「M-AHT」と言うことがある）が開示されている。M-AHTは、血液中に大量に存在するフィブリノゲンへの結合能が選択的に低いことから、AHTに較べて高い抗血栓効果を有する。

【0006】

一方で、アミノ酸置換を有するトロンビン誘導体の研究も行われている。トロンビンの遺伝子組み換えによる活性中心の置換体はこれまで下記のように幾つかの検討がなされてきた。

【0007】

例えは、非特許文献5には活性中心セリンをアラニンに置換したトロンビンを作製し白血球への影響が述べられている。この誘導体の活性に関しては活性を失ったトロンビン組み換え体と記載されている。また、非特許文献6には、トロンビンB鎖 203グリシン

をアラニンに置換したトロンビン、活性中心セリンをアラニン又はスレオニンに置換したトロンビン、活性中心ヒスチジンをアスパラギンに置換したトロンビン、活性中心アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビンが記載されている。この報告では、活性中心セリンをスレオニンに置換したトロンビン、活性中心ヒスチジンをアスパラギンに置換したトロンビン、活性中心アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビンは、野生型トロンビンに比較し数千から数万分の1に低下しているのに比較し、トロンビンB鎖203グリシンをアラニンに置換したトロンビン及び活性中心セリンをアラニンに置換したトロンビンに関しては活性が完全に失われたと報告している。しかしながら、これら報告のアミノ酸置換誘導体はトロンビン基質分解活性が残存している、あるいはトロンビン基質結合能が著しく低下している等により、抗血栓、抗炎症剤としての十分な機能を有していなかった。

【特許文献1】国際公開第01/03740号パンフレット

【特許文献2】国際公開第02/077031号パンフレット

【非特許文献1】J. Biol. Chem. 261(1986)15928-15933

【非特許文献2】日本血栓止血学会誌 第10巻 2, 3号(1999)

【非特許文献3】Biochemical J. (2001) 354: 309-313

【非特許文献4】ヴォート生化学 上巻 1996年 p331-340 東京化学同人

【非特許文献5】Experimental cell research 219, 650-656(1995)

【非特許文献6】Biochimica et Biophysica Acta 1451(1999) 173-186

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

AHTやM-AHTのように化学的手法により得られたトロンビン誘導体は、抗血栓効果や抗炎症効果を有しているが、セリンプロテアーゼ活性にはらつきがあり、AHTへ変換する際のアルカリ処理、再生処理等の多工程を必要とし、回収率も50から60%と十分ではないという改善すべき点があった。

【0009】

また、従来トリプシンにおいて報告されている多くの配列において活性中心のトロンビン置換体を作成したところ、抗血栓、抗炎症剤としての十分な機能を有していなかった。理由として、これら報告の置換体は抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的なトロンビン基質分解活性を有する、あるいは置換による影響で主にエクソサイトIの構造変化にともないトロンビン基質結合能が著しく低下している等の問題が考えられた。例えばBiochimica et Biophysica Acta 1451(1999) 173-186の中で活性が完全に喪失したと報告される活性中心セリンをアラニンに置換したトロンビン及びB鎖203グリシンをアラニンに置換したトロンビンにおいても、本発明で定義される抗血栓、抗炎症剤として用いる目的においての実質的なトロンビン基質分解活性が残存していた。さらに活性中心ヒスチジン及びアスパラギン酸の置換は活性をより低下させるものの、エクソサイトIの構造変化を招きトロンビン基質結合能が損なわれる場合があった。

本発明は、基質分解活性を実質的に欠き、かつ、十分な基質結合能を有する、抗血栓、抗炎症剤として使用可能なトロンビン変異体を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者は前述の従来技術の問題点に鑑み鋭意研究を重ねた。その結果、トロンビンのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が、遺伝子組換操作により置換されたトロンビンであり且つ抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的にトロンビン基質を分解しないレベルに活性が低下しており、且つトロンビン基質結合能を野生型トロンビンと同等に保持していればAHT同様の抗血栓、抗炎症効果が得られる事を見出した。

【0011】

また、トロンビンの活性中心の置換方法についてさらなる検討を行ったところ、トロンビン誘導体において活性中心セリンの置換はアラニン、スレオニン、グリシンへの置換であればエクソサイトIの構造が保持されトロンビン基質結合能が保たれること、その中でもグリシンへの置換がスレオニン、アラニンに対する置換に比べより活性が低下した置換体が得られる事を見出した。さらに、トロンビンB鎖203グリシンと活性中心セリン（B鎖205）を同時に最適な組み合わせで置換する事で、エクソサイトIの構造及びトロンビン基質結合能を保持し、且つ抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的なトロンビン基質分解活性を喪失した、抗血栓、抗炎症効果を持ったトロンビン誘導体が得られる事を見出した。

さらにエクソサイトIの構造及びトロンビン基質結合能を保持する配列であれば99アスパラギン酸、44ヒスチジンの置換を行うこともでき、これによってさらに基質分解活性の低下したトロンビン誘導体が得ることができることを見出した。

【0012】

本発明者はまた、上記変異体のナトリウム結合領域を置換あるいは修飾することによってさらにトロンビン基質分解活性を低下させることができることを見出した。さらに、上記トロンビン変異体のカルボシキル基を修飾することにより、トロンビン基質特異性がさらに限定され、より少ない使用量で良好な抗血栓効果を得ることができることを見出した。本発明者はそれらの知見に基づいて本発明を完成させた。

【0013】

すなわち、本発明は、以下のとおりである。

(1) 野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビン基質結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。

(2) 野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、ヒルジンC末端ペプチド結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100分の1以下であるトロンビン誘導体。

(3) 野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。

(4) 野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、0.1MのNaClを含むpH7.4の50mMトリス塩酸中でトロンビン蛋白質基質と37℃で3時間反応させたときに分解されるトロンビン基質の割合が10%以下であるトロンビン誘導体。

(5) 野生型トロンビンのアミノ酸配列においてB鎖の205番目のセリン、並びに、203番目のグリシン及び99番目のアスパラギン酸のいずれか一方又は両方のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

(6) 前記205番目のセリンがアラニン、スレオニン又はグリシンのいずれかに置換されたアミノ酸配列を有する、(5)のトロンビン誘導体。

(7) 前記205番目のセリンがグリシンに置換されたアミノ酸配列を有する、(5)のトロンビン誘導体。

(8) 前記203番目のグリシンがアラニン、スレオニン又はセリンのいずれかに置換されたアミノ酸配列を有する、(5)～(7)のいずれかのトロンビン誘導体。

(9) 前記99番目のアスパラギン酸がアスパラギンに置換された、(5)～(8)のいずれかのトロンビン誘導体。

(10) さらに、B鎖の43番目のヒスチジンが他のアミノ酸に置換された、(5)～(9)のいずれかのトロンビン誘導体。

(11) さらに、ナトリウム結合部位のアミノ酸が置換された、(5)～(10)の

いづれかのトロンビン誘導体。

(12) ナトリウム結合部位のアミノ酸がB鎖の232番目又は234番目のアスパラギン酸である、(11)のトロンビン誘導体。

(13) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、ヒルジンC末端ペプチド結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である、(5)～(12)のいづれかのトロンビン誘導体。

(14) 野生型トロンビンがヒト野生型トロンビンである、(1)～(13)のいづれかのトロンビン誘導体。

(15) ヒト野生型トロンビンが配列番号2のアミノ酸配列を含む蛋白質である、(14)のトロンビン誘導体。

(16) カルボキシル基が修飾された(1)～(15)のいづれかのトロンビン誘導体。

(17) カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾された(16)のトロンビン誘導体。

(18) (1)～(15)のいづれかのトロンビン誘導体をコードするDNA。

(19) (1)～(17)のいづれかのトロンビン誘導体を用いてなる医薬組成物。

(20) 抗血栓剤である、(19)の医薬組成物。

(21) 抗炎症剤である、(19)の医薬組成物。

(22) トロンビンレセプター活性化抑制剤である、(19)～(21)のいづれかの医薬組成物。

【発明の効果】

【0014】

本発明のトロンビン誘導体は、従来の化学的手法により得られたトロンビン誘導体に比べて、より少ない使用量で安定な抗血栓効果を得ることが出来る。なぜならば、従来のAHTやM-AHTのように化学的手法により得られたものに比べ、得られるトロンビン誘導体個々のトロンビン基質分解活性やトロンビン基質結合能のばらつきが実質的に皆無であるからである。さらに、本発明のトロンビン誘導体は、AHTやM-AHTのようにトロンビンからアンヒドロ化、再生処理の多工程を経ずに高回収率で抗血栓、抗炎症作用をもった不活性化トロンビンを得ることができる。また、従来の変異体に比べても、トロンビン基質分解活性が低いため、より少ない使用量で安定な抗血栓効果を得ることが出来る。

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明のトロンビン誘導体は、野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビン基質への結合能を保持し、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの活性よりも低下した誘導体である。ここで数個とは、2～20個、好ましくは2～10個、より好ましくは2～5個を意味する。

【0016】

ここで野生型トロンビンとしてはヒトの野生型トロンビンが好ましく、配列番号2のアミノ酸配列を含むトロンビンがより好ましい。この配列はヒト野生型トロンビンのA鎖及びB鎖を含む配列である。なお、生体内では、トロンビンは、プロトロンビン(トロンビン前駆体)がXa因子などのプロテアーゼによって切断され、A鎖(例えば配列番号2のアミノ酸番号1～49の領域)及びB鎖(例えば配列番号2のアミノ酸番号50～308の領域)がS-S結合によって架橋された立体構造を有している(血栓・止血・線溶 中外医学社 p164～167)。したがって、本発明におけるトロンビン誘導体は、生体内で前記構造をとることができるものであれば特に制限されず、A鎖及びB鎖の両鎖を含むトロンビンだけでなく、遺伝子組換えや化学合成などで別々に作製されたA鎖とB鎖が生体内に投与され、生体内で前記のA鎖及びB鎖がS-S結合によって架橋された立体構造をとるようになったものも含む。さらに、生体内で前記の立体構造をとることのできるプロトロンビ

ンやプレトロンビンなどのトロンビン前駆体蛋白質も本発明のトロンビン誘導体に含まれる。

【0017】

本発明において、「トロンビン基質への結合能」とは、血液凝固第VIII因子やトロンビンレセプターなどのトロンビン蛋白質基質やその一部のペプチドに対する結合能を意味する。トロンビン蛋白質基質としてはトロンビンレセプターが血栓形成及び炎症作用の進行に非常に重要であり、実質的にはトロンビンレセプターのトロンビンによる活性化を抑制することで血栓形成及び炎症作用は充分抑制される。したがって、トロンビン蛋白質基質としてはトロンビンレセプターのトロンビン結合領域を含むペプチドが好ましい。

【0018】

また、「トロンビン基質への結合能」は、トロンビン蛋白質基質に保存されている領域のアミノ酸配列を有するペプチド、例えば、ヒルジン(末端ペプチドなどに対する結合量を測定することによって確かめてもよい。トロンビンのエクソサイトIは多くの血栓形成、炎症作用を持ったトロンビン基質蛋白質への結合に最も重要な役割を果たす必須の領域として報告されている領域であるが (Journal of Biological Chemistry 1989 Vol 264 8 692-8698)、ヒルジン(末端ペプチドはこのエクソサイトIに対し特異的に結合することが知られる (Journal of Biological Chemistry 1991 Vol 266 23633-23636)。特に、血小板活性化を通じて血栓形成に重要な働きを持つトロンビンレセプターはヒルジン(末端領域に高い相同意を持ち、エクソサイトIへ強固に結合する事が報告されている。よってヒルジン(末端ペプチドに対する結合能を失っているものはエクソサイトIの構造が破壊されトロンビンレセプターをはじめとする多くのトロンビン基質への結合能を失っているものと考えられる。ヒルジン(末端ペプチド (例えば、配列番号3) に対する結合能は、実施例に示すようにヒルジンカラムへのトロンビン誘導体の結合量を測定することによって行うことができる。本発明のトロンビン誘導体は、野生型トロンビン又はアンヒドロトロンビンの1%以上、好ましくは10%以上、より好ましくは80%以上のトロンビン基質結合能を保持していることが望ましい。ここで、アンヒドロトロンビンはトロンビンの活性中心セリンが脱水酸化されたトロンビンであって、具体的には、国際公開第01/03740号パンフレットの実施例1記載のアンヒドロトロンビンを例示することができる。

【0019】

一方、本発明のトロンビン誘導体は、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの活性よりも低下していることが好ましいが、この「トロンビン基質分解活性」は、トロンビンレセプターなどの生体基質やS2238 (シグマ社より入手可) などの合成基質を用いて測定することができる。

【0020】

本発明のトロンビン誘導体の活性は野生型トロンビンに比較しより一層低いレベルである事が望ましい。具体的には100万分の1以下、さらに望ましくは1000万分の1以下に低下していることが望ましい。トロンビンの生理的条件下における蛋白質基質活性化における k_{cat} 値は約 100 sec^{-1} ほどにもなり、他多くの基質に対しても同等の k_{cat} 値を示す。ラット投与実験におけるアンヒドロトロンビン生体内薬効半減期は1時間以内であり、1000万分の1以下であれば抗血栓、抗炎症効果を目的としてトロンビン誘導体を投与した際、数時間にわたって蛋白性のトロンビン基質と結合した場合にもトロンビン誘導体のトロンビン基質分解活性が問題となることがないと考えられる。

【0021】

より具体的には、本発明のトロンビン誘導体は、例えば、実施例で示すような生理的条件下、3時間、トロンビンレセプターなどのトロンビン蛋白質基質と混合し反応させた場合の該基質の分解が10%以下のものを挙げることができる。上記条件であれば生体への投与後、本誘導体が代謝されるまでの間の本誘導体によるトロンビン基質活性化は問題にならないと考えられる。

【0022】

本発明のトロンビン誘導体は、通常の遺伝子変異導入法によってトロンビンの変異体を

コードするDNAを作製し、該DNAを哺乳動物細胞などで発現させることによって得られる変異体の中から基質分解活性が低下し、かつ、ヒルジン基質に対する結合能を保持しているものを選択することによって取得することができる。

【0023】

本発明の1個又は数個のアミノ酸を置換して得られるトロンビン誘導体は抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的にトロンビン基質分解活性を喪失しており、且つ基質結合能を野生型トロンビンと同等に保持していれば特に制限されるものではないが、具体的には、以下に説明される少なくとも活性中心のセリン（B鎖205；配列番号2の254番目のセリンに相当するセリン）及びB鎖203のグリシン（配列番号2の252番目のグリシンに相当するグリシン）が置換された誘導体が望ましい。活性中心のセリンは、その置換によってエクソサイトIの構造が破壊されてトロンビン基質結合能が損なわぬようにするために、スレオニン、アラニン、グリシンのいずれかに置換されていることが望ましく、グリシンへの置換がより望ましい。また、B鎖203グリシンはアラニン、セリン、スレオニンのいずれかに置換されている事が望ましい。本明細書中において、B鎖205、B鎖203等は、B鎖の1番目のアミノ酸（例えば、配列番号2のアミノ酸番号50のイソロイシン）から数えたアミノ酸番号を示している。なお、上記のような置換アミノ酸の位置はアミノ酸の欠失、挿入、付加などによって位置が前後することがある。例えば、N末端部に1つのアミノ酸残基が挿入されれば本来205番目のセリン残基は206番目となるが、そのような205番目のセリン残基に相当するセリン残基も、本発明においては205番目のセリン残基と呼ぶこととする。

【0024】

本発明のトロンビン誘導体は、上記置換に加えて、さらに活性中心アスパラギン酸（B鎖99；配列番号2の148番目のアスパラギン酸に相当するアスパラギン酸）が置換されたものであってもよい。また、本発明のトロンビン誘導体は、B鎖の205番目のセリン及び99番目のアスパラギン酸が置換されたものであってもよい。これらの誘導体において、活性中心アスパラギン酸は、アスパラギンに置換されていることが好ましい。

【0025】

また、本発明のトロンビン誘導体は、上記置換に加えて、さらに活性中心ヒスチジン（B鎖43；配列番号2の92番目のヒスチジンに相当するヒスチジン）が置換されたものであってもよい。この場合、活性中心ヒスチジンは、アスパラギンに置換されていることが好ましい。

【0026】

本発明のトロンビン誘導体は、上記置換に加えて、さらに、ナトリウム結合部位が置換されたトロンビン誘導体であってもよい。ナトリウム結合部位とはBiochemistry 1992年、31巻、p11721-11730に開示された部位をいう。この中ではB鎖232又はB鎖234のアスパラギン酸（配列番号2の281又は283番目のアスパラギン酸に相当するアスパラギン酸）が好ましい。これらのアスパラギン酸は両方が置換されてもよい。また、これらのアスパラギン酸は、アラニンもしくはアスパラギンに置換されることが好ましい。

【0027】

本発明のトロンビン誘導体は、ヒルジンC末端ペプチドへの結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である限りにおいて、上述した置換されるアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、付加されたアミノ酸配列を有する誘導体であってもよい。なお、ここで数個とは、2～20個、好ましくは2～10個、より好ましくは2～5個を意味する。また、ヒルジンC末端ペプチドへの結合能が野生型トロンビンの1%以上、かつトロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である限りにおいて、配列番号2のアミノ酸配列と全体として一定以上の相同性、すなわち、80%以上、好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上の相同性を有する範囲で改変されたものであってもよい。

【0028】

上記のようなトロンビン誘導体は部位特異的変異導入法により各誘導体をコードするDNAを作製し、該DNAを哺乳動物細胞などで発現させることによって得られる。このようなDNAは上述したようにA鎖及びB鎖の両方をコードするものであってもよいし、各鎖をそれぞれ発現させてもよい。部位特異的変異導入法は特に限定されるものではないが、例えば、市販のQuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit（ストラタジーン社製）などを用いて行っても良い。また、化学合成によってトロンビン誘導体を得ることもできる。

【0029】

本発明のトロンビンはさらに、上記の誘導体のカルボキシル基が修飾されたものであってもよい。この場合、カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾されたものが好ましい。カルボキシル基が修飾されることによって、フィブリノゲンに対する結合能が低下するため、トロンビンレセプターなどの基質に対する選択性が増し、より少量で抗血栓効果を達成することができる。トロンビン誘導体のカルボキシル基の修飾は、例えば、国際公開02/077031号パンフレットに記載の方法に基いて行うことができる。

【0030】

本発明はまた、上述したようなトロンビン誘導体をコードするDNAを提供する。このようなDNAとしては、例えば、配列番号7又は13の塩基番号130～1056の塩基配列を含むDNAなどを例示することができる。また、上述したようなトロンビン誘導体をコードする限りにおいて、配列番号7の塩基番号130～1056の塩基配列を含むDNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするものであってもよい。ここで、ストリンジエントな条件としては、例えば、通常のサザンハイブリダイゼーションの洗いの条件である60℃、1×SSC、0.1%SDS、好ましくは0.1×SSC、0.1%SDSに相当する塩濃度で、1回より好ましくは2～3回洗浄する条件が挙げられる。

【0031】

本発明のトロンビン誘導体は抗血栓作用を有している。この作用は、例えば、実施例に示すような血漿の部分活性化トロンボプラスチン時間(APTT)測定や全血凝固時間測定によって確認することができる。本発明のトロンビン誘導体を製剤学的に許容される製剤担体と組合わせることにより、医薬組成物として使用することができる。ここで、医薬組成物として好ましくは、抗血栓治療薬、抗炎症剤、トロンビンレセプター活性化抑制剤などを挙げることができる。上記製剤担体は製剤学的に許容されるものであれば特に制限されないが、通常の薬剤に汎用される注射剤用溶剤、安定剤、希釈剤、界面活性剤等を使用できる。本発明の医薬組成物の投与単位形態は特に限定されず、治療目的に応じて適宜選択できる。例えば、注射剤等を例示できる。本発明の医薬組成物の投与量は、症状などに応じて適宜選択される。

【実施例】

【0032】

以下実施例により本発明を更に詳しく説明するが、本発明はその趣旨を超えない限り、この実施例の範囲には限定されない。

【0033】

<1>トロンビン基質分解活性の測定

方法A：合成基質S2238（シグマ社）を基質とし、50mMトリス塩酸（pH8）、37℃における405nmの吸光度の増加による測定をおこなった。

被験サンプル（ヒト野生型トロンビンまたはトロンビン誘導体）の50mM トリス塩酸 0.1M NaCl溶液（pH7.4、ヒト野生型トロンビンの場合の濃度は1μg/ml、トロンビン誘導体の場合の濃度は200μg/ml）と、合成基質S2238の50mM トリス塩酸 0.1M NaCl溶液（pH7.4）を、それぞれ200μlずつエッペンチューブに加え、37℃、12時間インキュベーションした。反応停止は50%酢酸 200μlを添加して行った。

なお、合成基質S2238の50mM トリス塩酸 0.1M NaCl溶液（pH7.4）と、50mM トリス塩酸 0.1M NaCl pH7.4 を、それぞれ200μlずつエッペンチューブ

に加え、37°C、12時間インキュベーションしたものをコントロールとした。

12時間インキュベーションした後のコントロールの吸光度は、インキュベーション前に比べて0.005増加した。被験サンプルの12時間インキュベーション終了後の吸光度の増加が、インキュベーション前の吸光度に比べて0.025以下の場合は測定限界以下であると判定した。

方法Aにおいて活性が認められないレベルに活性が低下したトロンビンに関しては、さらに以下の方法Bの活性測定を行った。

【0034】

方法B：50mM トリス塩酸 0.1M NaCl pH7.4に透析した血液凝固XIII因子の50mM トリス塩酸 0.1M NaCl溶液 (pH7.4) と、被験サンプル (トロンビン誘導体) の50mM トリス塩酸 0.1M NaCl溶液 (pH7.4) を、それぞれ100μlずつエッペンチューブに加え、37°C、3時間インキュベーションした。50%酢酸 200μlを添加して反応を停止した後、SDS-PAGEによって血液凝固XIIIの活性化の有無を確認した。SDSPAGEを-SH条件下で行いXIIIのA鎖及び活性化A鎖のバンドの濃さをライトキャプチャー (アトーム株式会社) を用い解析比較した。

【0035】

<2>基質結合能の測定法

方法C：ヒルジンC末端ペプチド (配列番号3)への結合性の確認

(1) ヒルジンC末端ペプチドゲルの作製

ヒルジンC末端ペプチド10mgを0.1M NaHCO₃緩衝液に溶解し、同緩衝液に置換したNHS活性化セルロファイン (チツソ社) 10mlを加え混和し30分間 25°Cにて攪拌した。

ここに1Mトリス塩酸 pH8 25°C 20mlを加え更に30分間攪拌しヒルジンC末端ペプチド固定化ゲルを得た。同ゲルを50mM トリス塩酸 0.15M NaCl, pH7.4, 25°Cで平衡化した後、0.1M NaHCO₃緩衝液で透析した各トロンビン誘導体を添加し 30mlの0.1M NaHCO₃緩衝液で洗浄した。

(2) ヒルジンC末端ペプチド (配列番号3)への結合性の確認

ヒト野生型トロンビンもしくはトロンビン誘導体を含有する分画の2mlを、50mM トリス塩酸 0.15M NaCl pH8 4°Cに平衡化したヒルジンC末端ペプチドカラム10mlに添加し、30mlの50mM トリス塩酸緩衝液で洗浄後、50mM トリス塩酸 1M NaCl 1M グアニジン塩酸 pH8で溶出した。抗ヒトトロンビンモノクローナル抗体を用いたウェスタンプロットティングにより素通り分画、および溶出分画のトロンビンを確認した。なお、本実験では50%以下の担体への結合の誘導体は基質結合能を喪失していると判断した。

【0036】

方法D：バイオセンサー (IASys日製産業) を用いたトロンビン誘導体のトロンビンレセプター結合能の測定

(1) トロンビン誘導体固定化キュベットの作製

被験サンプル (トロンビン誘導体) 0.1ml 0.1mg/ml 10mM NaHCO₃ pH8を、NHS活性化CMデキストランキュベット (日製産業社) 10分間 25°Cで攪拌することにより、被験サンプル (トロンビン誘導体) をNHS活性化CMデキストランキュベットに固定し、トロンビン誘導体固定化キュベットを得た。引き続き1M エタノールアミン pH8を0.2ml加えブロッキング処理を行った。

(2) 約1000、500、200、100、50、25、10nMに調整した トロンビンレセプター細胞外ドメインペプチド (配列番号4) の50mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl 溶液 (pH7.4) 0.1mlを、(1) で得られたトロンビン誘導体固定化キュベットに加え結合曲線を解析した。

解析はFAST fit (日製産業) を用い同社マニュアルに順じて行った。

【0037】

[実施例1]

(1) ヒト野生型トロンビンの発現

ヒト野生型トロンビンのA鎖及びB鎖を含むDNA（配列番号5）をベクターに挿入しCHO細胞にトランスフェクションし、プレトロンビン生産細胞を得た。同プレトロンビン生産細胞をCD-CHO培地2リットルで10日間培養した。得られたプレトロンビン生産細胞の培養液2リットルを20リットルの10mM PIPES緩衝液pH7 4℃に6時間ずつ2回透析したのち、CMセルロファイン（チッソ社）500mlに添加し、10mM PIPES緩衝液pH7 1リットルにて洗浄した。次に、10mM PIPES緩衝液pH7 0～1M NaClの直線的濃度勾配にて溶出を行った。溶出液を各25mlずつの分画に分け、それぞれを抗ヒトトロンビンポリクローナル抗体（コスモバイオ社）を用いたウェスタンブロッティングによって確認したところ、ヒト野生型トロンビンは約0.4Mで溶出された。

【0038】

（2）ヒト野生型トロンビンのエカリンによる活性化及び活性化ヒト野生型トロンビンのヒルジンC末端ペプチドカラム結合性の確認

得られたヒト野生型トロンビンを5mg含む分画約100mlを2リットルの50mMトリス塩酸緩衝液、0.15M NaCl、5mM CaCl₂ pH8溶液に透析した後 エカリン（シグマ社）100unitsを加え 37℃ 24時間インキュベーションした。エカリン処理後の一剖を用い方法C記載のヒルジンC末端結合実験を行ったところ、素通り分画にはトロンビンは確認できず、溶出分画にトロンビンのバンドが確認された。

【0039】

（3）ヒト野生型トロンビンの精製

次にヒルジンC末端結合実験に使用した残りのエカリン活性化後のトロンビンを含む溶液98mlを、50mM トリス塩酸緩衝液、0.1M NaCl、pH8で平衡化した硫酸化セルロファインカラム（チッソ社）200mlに添加し、同緩衝液200mlで同カラムを洗浄した後、50mM トリス塩酸緩衝液、1M NaCl、pH8にて溶出した。さらに溶出液を50mM トリス塩酸緩衝液、0.1M NaCl、pH8に透析し 同緩衝液で平衡化されたヒルジンC末端ペプチドカラム（ヒルジンC末端ペプチドを200mg、NHS活性化セルロファイン（チッソ社）を30mlとした以外は、前述の「方法C：ヒルジン、（1）ヒルジンC末端ペプチドゲルの作製」に記載の方法の準じて作製した）30mlに添加した。50mM トリス塩酸緩衝液150mlで該ヒルジンC末端ペプチドカラムを洗浄した後、50mM トリス塩酸緩衝液、1M NaCl 1M ゲアニジン塩酸 pH8にて溶出し、SDSPAGE上でほぼ純化されたヒルジン結合性のヒト野生型トロンビン 約5mgを得た。

【0040】

【実施例2】

（1）B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをグリシンに置換したトロンビン（以下203A205Gトロンビン）の発現

203A205GトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。203A205Gトロンビン塩基配列を配列番号7に示す。

【0041】

203A205Gトロンビンを実施例1の（1）の方法で発現した。実施例1の（2）の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実施例1の（3）の方法に準じて硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上でほぼ純化された203A205Gトロンビンが約5mg得られた。

【0042】

（2）203A205Gトロンビンの基質分解活性測定

（1）で得られた203A205Gトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、203A205Gトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。

【0043】

（3）203A205Gトロンビンのトロンビンレセプターへの結合能の確認

(1) で得られた203A205Gトロンビンのトロンビンレセプターへの結合能を、前述の方法Dに従って測定した。203A205Gトロンビンのトロンビンレセプターの解離定数は3.2 μ Mであった。

【0044】

(4) カルボキシル基修飾203A205Gトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定

1mg/5mlの203A205Gトロンビン/50mMリン酸緩衝液 0.5M NaCl pH6.5を0.2Mグリシンエチルエステル 0.5M NaCl pH6.5に室温で3時間透析した後 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide(和光純薬)を、その濃度が20mg/mlになるように添加し、25℃にて1時間インキュベーションし、203A205Gトロンビンのカルボキシル基を修飾した。

修飾された203A205Gトロンビン500 μ gを、5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4 1mlに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:10の割合となるように添加し、APTTを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4を、標準血漿(国際試薬社)に1:10(容量比)となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは38秒であったのに対し、カルボキシル基修飾203A205GトロンビンのAPTTは65秒であった。

【0045】

以上より、203A205Gトロンビンは、活性が検出限界以下に低下しているが、基質への結合能は保持していることがわかった。また、APTTの結果から、カルボキシル基修飾203A205Gトロンビンは十分な抗血栓効果を有していることがわかった。

【0046】

[比較例1]

(1) B鎖205セリンをアラニンに置換したトロンビン(以下205Aトロンビン)の発現

205AトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205Aトロンビン塩基配列を配列番号9に示す。

【0047】

205Aトロンビンを実施例1の(1)の方法に準じて発現させた。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実施例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上 ほぼ純化された205Aトロンビンが約6mg得られた。

【0048】

(2) 205Aトロンビンの基質分解活性測定

(1) で得られた205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、205Aトロンビンの基質分解活性は、ヒト野生型トロンビンに比較し約3 \times 10 $^{-5}$ の活性であった。

さらに、205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、90%以上のXIIIのA鎖は活性化されていた。

【0049】

(3) 205Aトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定

205Aトロンビン500 μ gを、5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4 1mlに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4を、標準血漿(国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは55秒であったのに対し、205AトロンビンのAPTTは95秒であった。

以上より、205Aトロンビンは活性が残存しており、1分から数分の間に測定するAPTTにおいては抗血栓効果を示すが残存活性試験より生体に投与した場合、205Aトロンビンが代

謝されるまでの時間にトロンビン基質を分解してしまう事が予想された。

【0050】

【比較例2】

(1) B鎖205セリンをスレオニンに置換したトロンビン(以下205Tトロンビン)の発現
205TトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。

205Tトロンビン塩基配列を配列番号11に示す。

【0051】

205Tトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現させた。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実施例1の(3)の方法に準じて硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上 ほぼ純化された205Tトロンビンが約5mg得られた。

【0052】

(2) 205Tトロンビンの基質分解活性測定

(1) で得られた205Tトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、205Tトロンビンの基質分解活性は、ヒト野生型トロンビンに比較し約 2.5×10^{-4} の活性であった。

さらに、205Tトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、ほぼ全てのXIIIのA鎖は野生型トロンビン同様の活性化を受け、分解された活性化血液凝固XIII因子のバンドが確認された。以上より、205Tトロンビンは活性が残存していることがわかった。

【0053】

【実施例3】

(1) B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをアラニンにB鎖99アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビン(203A205A99Nトロンビン)の発現

203A205A99NトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。

203A205A99Nトロンビン塩基配列を配列番号13に示す。

【0054】

203A205A99Nトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現した。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実施例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上 ほぼ純化された203A205A99Nトロンビンが約5mg得られた。

【0055】

(2) 203A205A99Nトロンビンの基質分解活性測定

(1) で得られた203A205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、203A205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。

【0056】

(3) 203A205A99Nトロンビン添加血液の全血凝固時間測定

203A205A99Nトロンビン500μgを5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4 1mlに溶解し、採血直後の全血500μlに加え全血凝固時間を測定した。コントロールとして、5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4 500μgを採血直後の全血500μlに加え全血凝固時間を測定した。その結果、コントロールでは全血凝固時間が4分30秒であったのに対し、203A205A99N添加血液では7分20秒であった。以上より、203A205A99Nトロンビンは十分な抗血栓効果を有していることがわかった。

【0057】

【比較例3】

(1) B鎖205セリンをバリンに置換したトロンビン(以下205Vトロンビン)の発現

205VトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205Vトロンビン塩基配列を配列番号15に示す。

【0058】

205Vトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現した。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはほぼすべてのトロンビンのバンドが現われ、溶出ピークにはトロンビンのバンドが確認されなかった。これにより、205Vトロンビンは基質結合能が低下していることがわかった。

【0059】

[比較例4]

(1) B鎖205セリンをアスパラギン酸に置換したトロンビン(以下205Dトロンビン)の発現

205DトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。

205Dトロンビン塩基配列を配列番号17に示す。

【0060】

205Dトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現した。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはほぼすべてのトロンビンのバンドが現われ、溶出ピークにはトロンビンのバンドが確認されなかった。これにより、205Dトロンビンは基質結合能が低下していることがわかった。

【0061】

[比較例5]

(1) B鎖205セリンをアスパラギンに置換したトロンビン(以下205Nトロンビン)の発現

205NトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205Nトロンビン塩基配列を配列番号19に示す。

【0062】

205Nトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現した。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはほぼすべてのトロンビンのバンドが現われ、溶出ピークにはトロンビンのバンドが確認されなかった。これにより、205Nトロンビンは基質結合能が低下していることがわかった。

【0063】

[比較例6]

国際公開第01/03740号パンフレットの実施例1記載のアンヒドロトロンビンのトロンビンレセプター結合能の測定を、方法Dにより測定したところ、該アンヒドロトロンビンとトロンビンレセプターの解離定数は $1.2 \mu M$ であった。

【0064】

[実施例4]

(1) B鎖205セリンをアラニンにB鎖99アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビン(205A99Nトロンビン)の発現

205A99NトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。

205A99Nトロンビン塩基配列を配列番号21に示す。

【0065】

205A99Nトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現した。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実施例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された205A99Nトロンビンが約5.5mg得られた。

【0066】

(2) 205A99Nトロンビンの基質分解活性測定

(1) で得られた205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。

【0067】

(3) 205A99Nトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定

205A99Nトロンビン100 μ gを、5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4 1mlに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、ATPPを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl pH7.4を、標準血漿(国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは55秒であったのに対し、205A99NトロンビンのAPTTは75秒であった。

以上より205A99Nトロンビンは十分な抗血栓能を有していることが分かった。

【0068】

【実施例5】

(1) B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをアラニンに置換したトロンビン(203A205Aトロンビン)の発現

203A205AトロンビンのDNAを相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。203A205Aトロンビン塩基配列を配列番号23に示す。

【0069】

203A205Aトロンビンを実施例1の(1)の方法で発現した。実施例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実施例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された203A205Aトロンビンが約4mg得られた。

【0070】

(2) 203A205Aトロンビンの基質分解活性測定

(1) で得られた203A205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、203A205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。

203A205AトロンビンはヒルジンC末端ペプチド結合性を有し且つ十分に活性を失っていることが分かった

【産業上の利用可能性】

【0071】

本発明のトロンビン誘導体は、抗血栓剤、抗炎症剤などの医薬として好適に用いることができる。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Chisso Corporation
FUJIMORI KOGYO Co., Ltd.

<120> トロンビン誘導体、およびそれを含有する医薬組成物

<130> P-C40285

<160> 24

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 927

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(927)

<223>

<400> 1

acc gcc acc agt gag tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc 48
Thr Ala Thr Ser Glu Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly
1 5 10 15

t cg gga gag gca gac tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag t cg 96
Ser Gly Glu Ala Asp Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser
20 25 30

ctg gag gac aaa acc gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg 144
Leu Glu Asp Lys Thr Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly
35 40 45

cgc att gtg gag ggc tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag 192
Arg Ile Val Glu Gly Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln
50 55 60

gtg atg ctt ttc cgg aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc 240
Val Met Leu Phe Arg Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser
65 70 75 80

ctc atc agt gac cgc tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac 288
Leu Ile Ser Asp Arg Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr
85 90 95

ccg ccc tgg gac aag aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att 336

Pro	Pro	Trp	Asp	Lys	Asn	Phe	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ile	
				100			105						110			
g	g	c	a	a	c	t	c	c	a	a	g	t	a	a	g	384
Gly	Lys	His	Ser	Arg	Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ser	
	115				120						125					
a	t	t	g	g	a	a	g	a	t	c	c	g	t	g	432	
Met	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr	Ile	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	
	130				135						140					
c	t	g	g	a	c	g	g	a	c	t	c	c	t	g	480	
Leu	Asp	Arg	Asp	Ile	Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	Phe	
	145				150				155				160			
a	g	t	g	a	c	t	c	t	g	t	c	g	g	a	528	
Ser	Asp	Tyr	Ile	His	Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	
	165				170						175					
a	g	c	t	t	g	c	t	g	a	g	c	t	g	g	576	
Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	
	180				185						190					
c	t	g	a	g	g	a	c	g	c	t	t	g	c	c	624	
Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	
	195				200					205						
c	t	g	c	a	g	t	t	g	g	c	g	t	t	g	672	
Leu	Gln	Val	Val	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Cys	Lys	Asp	
	210				215					220						
t	c	c	a	c	c	t	c	t	t	t	t	t	t	t	720	
Ser	Thr	Arg	Ile	Arg	Ile	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	
	225				230				235				240			
c	c	t	g	a	g	g	g	g	t	g	g	g	g	g	768	
Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	
	245				250						255					
c	c	t	t	t	g	t	a	t	a	c	t	t	t	t	816	
Pro	Phe	Val	Met	Lys	Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	
	260				265						270					
a	t	c	t	c	t	g	g	t	g	c	g	g	a	t	864	
Ile	Val	Ser	Trp	Gly	Glu	Gly	Cys	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Tyr	Gly	Phe	
	275				280					285						
t	a	c	a	c	t	g	t	t	a	c	a	g	g	t	912	
Tyr	Thr	His	Val	Phe	Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	Ile	Gln	Lys	Val	Ile	Asp	
	290				295					300						

cag ttt gga gag tag
Gln Phe Gly Glu
305

927

<210> 2
<211> 308
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Thr Ala Thr Ser Glu Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly
1 5 10 15

Ser Gly Glu Ala Asp Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser
20 25 30

Leu Glu Asp Lys Thr Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly
35 40 45

Arg Ile Val Glu Gly Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln
50 55 60

Val Met Leu Phe Arg Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser
65 70 75 80

Leu Ile Ser Asp Arg Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr
85 90 95

Pro Pro Trp Asp Lys Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile
100 105 110

Gly Lys His Ser Arg Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser
115 120 125

Met Leu Glu Lys Ile Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn
130 135 140

Leu Asp Arg Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe
145 150 155 160

Ser Asp Tyr Ile His Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala
165 170 175

Ser Leu Leu Gln Ala Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn
180 185 190

Leu Lys Glu Thr Trp Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val

195

200

205

Leu Gln Val Val Asn Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp
210 215 220

Ser Thr Arg Ile Arg Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys
225 230 235 240

Pro Asp Glu Gly Lys Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly
245 250 255

Pro Phe Val Met Lys Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly
260 265 270

Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe
275 280 285

Tyr Thr His Val Phe Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp
290 295 300

Gln Phe Gly Glu
305

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Gly Asp Glu Glu Ile Pro Glu Glu Tyr Leu
1 5 10

<210> 4

<211> 73

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Arg Arg Pro Glu Ser Lys Ala Thr Asn Ala Thr Leu Asp Pro Arg Ser
1 5 10 15

Phe Leu Leu Arg Asn Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp
20 25 30

Glu Glu Lys Asn Glu Ser Gly Leu Thr Glu Tyr Arg Leu Val Ser Ile
35 40 45

Asn Lys Ser Ser Pro Leu Gln Lys Gln Leu Pro Ala Phe Ile Ser Glu
50 55 60

Asp Ala Ser Gly Tyr Leu Thr Ser Ser
65 70

<210> 5
<211> 1056
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1056)
<223>

<400> 5
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

caa gca cgg tcg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc 240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc 288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg 336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc 384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

tgg	gtc	ctc	acc	gcc	gcc	cac	tgc	ctc	ctg	tac	ccg	ccc	tgg	gac	aag	432	
Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Leu	Tyr	Pro	Pro	Trp	Asp	Lys		
130																	
															140		
aac	ttc	acc	gag	aat	gac	ctt	ctg	gtg	cgc	att	ggc	aag	cac	tcc	cgc	480	
Asn	Phe	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ile	Gly	Lys	His	Ser	Arg		
145																	
															150		
															155		
															160		
aca	agg	tac	gag	cga	aac	att	gaa	aag	ata	tcc	atg	ttg	gaa	aag	atc	528	
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Lys	Ile		
															165		
															170		
															175		
tac	atc	cac	ccc	agg	tac	aac	tgg	cgg	gag	aac	ctg	gac	cgg	gac	att	576	
Tyr	Ile	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asp	Ile		
															180		
															185		
															190		
gcc	ctg	atg	aag	ctg	aag	aag	cct	gtt	gcc	ttc	agt	gac	tac	att	cac	624	
Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ile	His		
															195		
															200		
															205		
cct	gtg	tgt	ctg	ccc	gac	agg	gag	acg	gca	gcc	agc	ttg	ctc	cag	gct	672	
Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala		
															210		
															215		
															220		
gga	tac	aag	ggg	cgg	gtg	aca	ggc	tgg	ggc	aac	ctg	aag	gag	acg	tgg	720	
Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp		
															225		
															230		
															235		
															240		
aca	gcc	aac	gtt	ggt	aag	ggg	cag	ccc	agt	gtc	ctg	cag	gtg	gtg	aac	768	
Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	Leu	Gln	Val	Val	Asn		
															245		
															250		
															255		
ctg	ccc	att	gtg	gag	cgg	ccg	gtc	tgc	aag	gac	tcc	acc	cgg	atc	cgc	816	
Leu	Pro	Ile	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Cys	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Ile	Arg		
															260		
															265		
															270		
atc	act	gac	aac	atg	ttc	tgt	gct	ggt	tac	aag	cct	gat	gaa	ggg	aaa	864	
Ile	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys		
															275		
															280		
															285		
cga	ggg	gat	gcc	tgt	gaa	ggt	gac	agt	ggg	gga	ccc	ttt	gtc	atg	aag	912	
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys		
															290		
															295		
															300		
agc	ccc	ttt	aac	aac	cgc	tgg	tat	caa	atg	ggc	atc	gtc	tca	tgg	ggt	960	
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly		
															305		
															310		
															315		
															320		
gaa	ggc	tgt	gac	cgg	gat	ggg	aaa	tat	ggc	ttc	tac	aca	cat	gtg	ttc	1008	

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag 1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 6

<211> 351

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 7

<211> 1056

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1056)

<223>

<400> 7

atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15 48

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30 96

caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag	144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu	
35 40 45	
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac	192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp	
50 55 60	
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc	240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr	
65 70 75 80	
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc	288
Glut Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly	
85 90 95	
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg	336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg	
100 105 110	
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc	384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg	
115 120 125	
tgg gtc ctc acc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag	432
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys	
130 135 140	
aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att gcc aag cac tcc cgc	480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg	
145 150 155 160	
aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc	528
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile	
165 170 175	
tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg gac att	576
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile	
180 185 190	
gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac	624
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His	
195 200 205	
cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct	672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala	
210 215 220	
gga tac aag ggg cgg gtg aca ggc tgg ggc aac ctg aag gag acg tgg	720

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

aca gcc aac gtt ggt aag ggg cag ccc agt gtc ctg cag gtg gtg aac 768
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

ctg ccc att gtg gag cgg ccg gtc tgc aag gac tcc acc cgg atc cgc 816
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

atc act gac aac atg ttc tgt gct ggt tac aag cct gat gaa ggg aaa 864
Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

cga ggg gat gcc tgt gaa gct gac ggt ggg gga ccc ttt gtc atg aag 912
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Gly Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

agc ccc ttt aac aac cgc tgg tat caa atg ggc atc gtc tca tgg ggt 960
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc 1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag 1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 8

<211> 351

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe

325

330

335

Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	Ile	Gln	Lys	Val	Ile	Asp	Gln	Phe	Gly	Glu
340							345						350	

<210> 9

<211> 1056

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1056)

<223>

<400> 9

atg	gcg	cac	gtc	cga	ggc	ttg	cag	ctg	cct	ggc	tgc	ctg	gcc	ctg	gct	48
Met	Ala	His	Val	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro	Gly	Cys	Leu	Ala	Leu	Ala	
1				5				10					15			

gcc	ctg	tgt	agc	ctt	gtg	cac	agc	cag	cat	gtg	ttc	ctg	gct	cct	cag	96
Ala	Leu	Cys	Ser	Leu	Val	His	Ser	Gln	His	Val	Phe	Leu	Ala	Pro	Gln	
			20				25					30				

caa	gca	cgg	tcg	ctg	ctc	cag	cgg	gtc	cgg	cga	acc	gcc	acc	agt	gag	144
Gln	Ala	Arg	Ser	Leu	Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Arg	Thr	Ala	Thr	Ser	Glu	
		35			40				45							

tac	cag	act	ttc	ttc	aat	ccg	agg	acc	ttt	ggc	tcg	gga	gag	gca	gac	192
Tyr	Gln	Thr	Phe	Phe	Asn	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Gl	Ala	Asp	
		50			55				60							

tgt	ggg	ctg	cga	cct	ctg	ttc	gag	aag	aag	tcg	ctg	gag	gac	aaa	acc	240
Cys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	
		65			70			75			80					

gaa	aga	gag	ctc	ctg	gaa	tcc	tac	atc	gac	ggg	cgc	att	gtg	gag	ggc	288
Glu	Arg	Glu	Leu	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile	Asp	Gly	Arg	Ile	Val	Glu	Gly	
			85			90				95						

tcg	gat	gca	gag	atc	ggc	atg	tca	cct	tgg	cag	gtg	atg	ctt	ttc	cgg	336
Ser	Asp	Ala	Glu	Ile	Gly	Met	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Met	Leu	Phe	Arg	
			100			105				110						

aag	agt	ccc	cag	gag	ctg	ctg	tgt	ggg	gcc	agc	ctc	atc	agt	gac	cgc	384
Lys	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Leu	Cys	Gly	Ala	Ser	Leu	Ile	Ser	Asp	Arg	
			115			120			125							

tgg	gtc	ctc	acc	gcc	gcc	cac	tgc	ctc	ctg	tac	ccg	ccc	tgg	gac	aag	432
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc 480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc 528
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg gac att 576
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac 624
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct 672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

gga tac aag ggg cgg gtg aca ggc tgg ggc aac ctg aag gag acg tgg 720
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

aca gcc aac gtt ggt aag ggg cag ccc agt gtc ctg cag gtg gtg aac 768
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

ctg ccc att gtg gag cgg ccg gtc tgc aag gac tcc acc cgg atc cgc 816
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

atc act gac aac atg ttc tgt gct ggt tac aag cct gat gaa ggg aaa 864
Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

cga ggg gat gcc tgt gaa ggt gac gct ggg gga ccc ttt gtc atg aag 912
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

agc ccc ttt aac aac cgc tgg tat caa atg ggc atc gtc tca tgg ggt 960
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc 1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag 1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 10
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His

195

200

205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
 210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
 225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
 245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
 260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
 275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
 290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
 305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
 325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
 340 345 350

<210> 11

<211> 1056

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1056)

<223>

<400> 11

atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
 Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
 1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
 Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
 20 25 30

caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

ta c cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc 240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc 288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg 336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc 384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag 432
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att gcc aag cac tcc cgc 480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc 528
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg gac att 576
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac 624
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct 672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

gga tac aag ggg cgg gtg aca ggc tgg ggc aac ctg aag gag acg tgg 720
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

aca	gcc	aac	gtt	ggt	aag	ggg	cag	ccc	agt	gtc	ctg	cag	gtg	gtg	aac	768
Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	Leu	Gln	Val	Val	Asn	
																245
																250
																255
ctg	ccc	att	gtg	gag	cgg	ccg	gtc	tgc	aag	gac	tcc	acc	cgg	atc	cgc	816
Leu	Pro	Ile	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Cys	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Ile	Arg	
																260
																265
																270
atc	act	gac	aac	atg	ttc	tgt	gct	ggt	taa	aag	cct	gat	gaa	ggg	aaa	864
Ile	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
																275
																280
																285
cga	ggg	gat	gcc	tgt	gaa	ggt	gac	act	ggg	gga	ccc	ttt	gtc	atg	aag	912
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys	
																290
																295
																300
agc	ccc	ttt	aac	aac	cgc	tgg	tat	caa	atg	ggc	atc	gtc	tca	tgg	ggt	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly	
																305
																310
																315
																320
gaa	ggc	tgt	gac	cgg	gat	ggg	aaa	tat	ggc	tcc	taa	aca	cat	gtg	tcc	1008
Gl	u	Gly	Cys	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Tyr	Gly	Phe	Tyr	Thr	His	Val	Phe
																325
																330
																335
cgc	ctg	aag	aag	tgg	ata	cag	aag	gtc	att	gat	cag	ttt	gga	gag	tag	1056
Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	Ile	Gln	Lys	Val	Ile	Asp	Gln	Phe	Gly	Glu		
																340
																345
																350
<210>	12															
<211>	351															
<212>	PRT															
<213>	Homo sapiens															
<400>	12															
Met	Ala	His	Val	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro	Gly	Cys	Leu	Ala	Leu	Ala	
																1
																5
																10
																15
Ala	Leu	Cys	Ser	Leu	Val	His	Ser	Gln	His	Val	Phe	Leu	Ala	Pro	Gln	
																20
																25
																30
Gln	Ala	Arg	Ser	Leu	Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Arg	Thr	Ala	Thr	Ser	Glu	
																35
																40
																45
Tyr	Gln	Thr	Phe	Phe	Asn	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Glu	Ala	Asp	
																50
																55
																60
Cys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	

65

70

75

80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Thr Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 13
<211> 1056
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1056)
<223>

<400> 13
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

caa gca cgg tcg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc 240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc 288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg 336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

aag agt ccc cas gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc 384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

tgg gtc ctc acc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag 432
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

aac	tac	acc	gag	aat	gac	ctt	ctg	gtg	cgc	att	ggc	aag	cac	tcc	cgc	480
Asn	Phe	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ile	Gly	Lys	His	Ser	Arg	
145						150				155					160	
aca	agg	tac	gag	cga	aac	att	gaa	aag	ata	tcc	atg	ttg	gaa	aag	atc	528
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Lys	Ile	
						165			170					175		
tac	atc	cac	ccc	agg	tac	aac	tgg	cgg	gag	aac	ctg	gac	cgg	aac	att	576
Tyr	Ile	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asn	Ile	
						180		185						190		
gcc	ctg	atg	aag	ctg	aag	aag	cct	gtt	gcc	ttc	agt	gac	tac	att	cac	624
Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ile	His	
						195		200						205		
cct	gtg	tgt	ctg	ccc	gac	agg	gag	acg	gca	gcc	agc	ttg	ctc	cag	gct	672
Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	
						210		215				220				
gga	tac	aag	ggg	cgg	gtg	aca	ggc	tgg	ggc	aac	ctg	aag	gag	acg	tgg	720
Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	
						225		230				235		240		
aca	gcc	aac	gtt	ggt	aag	ggg	cag	ccc	agt	gtc	ctg	cag	gtg	gtg	aac	768
Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	Leu	Gln	Val	Val	Asn	
						245		250						255		
ctg	ccc	att	gtg	gag	cgg	ccg	gtc	tgc	aag	gac	tcc	acc	cgg	atc	cgc	816
Leu	Pro	Ile	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Cys	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Ile	Arg	
						260		265						270		
atc	act	gac	aac	atg	ttc	tgt	gct	ggt	tac	aag	cct	gat	gaa	ggg	aaa	864
Ile	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
						275		280				285				
cga	ggg	gat	gcc	tgt	gaa	gct	gac	gct	ggg	gga	ccc	ttt	gtc	atg	aag	912
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Ala	Asp	Ala	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys	
						290		295				300				
agc	ccc	ttt	aac	aac	cgc	tgg	tat	caa	atg	ggc	atc	gtc	tca	tgg	ggt	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly	
						305		310				315		320		
gaa	ggc	tgt	gac	cgg	gat	ggg	aaa	tat	ggc	ttc	tac	aca	cat	gtg	ttc	1008
Gl	u	Gly	Cys	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Tyr	Gly	Phe	Tyr	Thr	His	Val	Phe
						325		330						335		
cgc	ctg	aag	aag	tgg	ata	cag	aag	gtc	att	gat	cag	ttt	gga	gag	tag	1056

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 14
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asn Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 15

<211> 1056

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1056)

<223>

<400> 15

atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtc cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

tac	cag	act	ttc	ttc	aat	ccg	agg	acc	ttt	ggc	tcg	gga	gag	gca	gac	192
Tyr	Gln	Thr	Phe	Phe	Asn	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Glu	Ala	Asp	
50					55					60						
tgt	ggg	ctg	cga	cct	ctg	ttc	gag	aag	aag	tcg	ctg	gag	gac	aaa	acc	240
Cys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	
65					70					75				80		
gaa	aga	gag	ctc	ctg	gaa	tcc	tac	atc	gac	ggg	cgc	att	gtg	gag	ggc	288
Glu	Arg	Glu	Leu	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile	Asp	Gly	Arg	Ile	Val	Glu	Gly	
					85				90				95			
tcg	gat	gca	gag	atc	ggc	atg	tca	cct	tgg	cag	gtg	atg	ctt	ttc	cgg	336
Ser	Asp	Ala	Glu	Ile	Gly	Met	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Met	Leu	Phe	Arg	
					100			105				110				
aag	agt	ccc	cag	gag	ctg	ctg	tgt	ggg	gcc	agc	ctc	atc	agt	gac	cgc	384
Lys	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Leu	Cys	Gly	Ala	Ser	Leu	Ile	Ser	Asp	Arg	
					115			120				125				
tgg	gtc	ctc	acc	gcc	gcc	cac	tgc	ctc	ctg	tac	ccg	ccc	tgg	gac	aag	432
Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Leu	Tyr	Pro	Pro	Trp	Asp	Lys	
					130			135				140				
aac	ttc	acc	gag	aat	gac	ctt	ctg	gtg	cgc	att	ggc	aag	cac	tcc	cgc	480
Asn	Phe	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ile	Gly	Lys	His	Ser	Arg	
					145			150			155			160		
aca	agg	tac	gag	cga	aac	att	gaa	aag	ata	tcc	atg	ttg	gaa	aag	atc	528
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Lys	Ile	
					165			170				175				
tac	atc	cac	ccc	agg	tac	aac	tgg	cgg	gag	aac	ctg	gac	cgg	gac	att	576
Tyr	Ile	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asp	Ile	
					180			185				190				
gcc	ctg	atg	aag	ctg	aag	aag	cct	gtt	gcc	ttc	agt	gac	tac	att	cac	624
Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ile	His	
					195			200			205					
cct	gtg	tgt	ctg	ccc	gac	agg	gag	acg	gca	gcc	agc	ttg	ctc	cag	gct	672
Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	
					210			215			220					
gga	tac	aag	ggg	cgg	gtg	aca	ggc	tgg	ggc	aac	ctg	aag	gag	acg	tgg	720
Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	
					225			230			235			240		
aca	gcc	aac	gtt	ggt	aag	ggg	cag	ccc	agt	gtc	ctg	cag	gtg	gtg	aac	768

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

ctg ccc att gtg gag cgg ccg gtc tgc aag gac tcc acc cgg atc cgc 816
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

atc act gac aac atg ttc tgt gct ggt tac aag cct gat gaa ggg aaa 864
Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

cga ggg gat gcc tgt gaa ggt gac gtt ggg gga ccc ttt gtc atg aag 912
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Val Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

agc ccc ttt aac aac cgc tgg tat caa atg ggc atc gtc tca tgg ggt 960
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc 1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag 1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 16
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 17
<211> 1056
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1056)
<223>

<400> 17
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30
caa gca cgg tcg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc 240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc 288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg 336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc 384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125
tgg gtc ctc acc gcc gac cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag 432
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140
aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc 480

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc 528
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctt gac cgg gac att 576
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac 624
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct 672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

gga tac aag ggg cgg gtg aca ggc tgg ggc aac ctg aag gag acg tgg 720
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

aca gcc aac gtt ggt aag ggg cag ccc agt gtc ctg cag gtg gtg aac 768
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

ctg ccc att gtg gag cgg ccg gtc tgc aag gac tcc acc cgg atc cgc 816
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

atc act gac aac atg ttc tgt gct ggt tac aag cct gat gaa ggg aaa 864
Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

cga ggg gat gcc tgt gaa ggt gac gat ggg gga ccc ttt gtc atg aag 912
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Asp Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

agc ccc ttt aac aac cgc tgg tat caa atg ggc atc gtc tca tgg ggt 960
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc 1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag 1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 18
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Asp Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glut Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 19

<211> 1056

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1056)

<223>

<400> 19

atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc 240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc 288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg 336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc 384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag 432
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att gcc aag cac tcc cgc 480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc 528
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg gac att 576
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac 624
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct 672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

gga tac aag ggg cgg gtg aca ggc tgg ggc aac ctg aag gag acg tgg 720
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

aca gcc aac gtt ggt aag ggg cag ccc agt gtc ctg cag gtg gtc aac 768
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

ctg	ccc	att	gtg	gag	cgg	ccg	gtc	tgc	aag	gac	tcc	acc	cgg	atc	cgc	816	
Leu	Pro	Ile	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Cys	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Ile	Arg		
260								265					270				
atc	act	gac	aac	atg	ttc	tgt	gct	ggt	tac	aag	cct	gat	gaa	ggg	aaa	864	
Ile	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys		
275								280				285					
cga	ggg	gat	gcc	tgt	gaa	ggt	gac	aat	ggg	gga	ccc	ttt	gtc	atg	aag	912	
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Gly	Asp	Asn	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys		
290					295						300						
agc	ccc	ttt	aac	aac	cgc	tgg	tat	caa	atg	ggc	atc	gtc	tca	tgg	ggt	960	
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly		
305					310				315			320					
gaa	ggc	tgt	gac	cgg	gat	ggg	aaa	tat	ggc	ttc	tac	aca	cat	gtg	ttc	1008	
Gl	u	Gly	Cys	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Tyr	Gly	Phe	Tyr	Thr	His	Val	Phe	
325								330					335				
cgc	ctg	aag	aag	tgg	ata	cag	aag	gtc	att	gat	cag	ttt	gga	gag	tag	1056	
Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	Ile	Gln	Lys	Val	Ile	Asp	Gln	Phe	Gly	Glu			
340								345				350					

<210> 20
 <211> 351
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

Met	Ala	His	Val	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro	Gly	Cys	Leu	Ala	Leu	Ala	1
						5			10				15			
Ala	Leu	Cys	Ser	Leu	Val	His	Ser	Gln	His	Val	Phe	Leu	Ala	Pro	Gln	20
								25				30				
Gln	Ala	Arg	Ser	Leu	Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Arg	Thr	Ala	Thr	Ser	Glu	35
								40			45					
Tyr	Gln	Thr	Phe	Phe	Asn	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Glu	Ala	Asp	50
								55			60					
Cys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	65
									75				80			
Glu	Arg	Glu	Leu	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile	Asp	Gly	Arg	Ile	Val	Glu	Gly	85
								90				95				

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Asn Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glut Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 21
<211> 1056
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1056)
<223>

<400> 21
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc 240
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc 288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg 336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc 384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

tgg gtc ctc acc gcc gac cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag 432
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc 480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

aca	agg	tac	gag	cga	aac	att	gaa	aag	ata	tcc	atg	ttg	gaa	aag	atc	528
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Lys	Ile	
						165			170					175		
tac	atc	cac	ccc	agg	tac	aac	tgg	cgg	gag	aac	ctg	gac	cgg	aac	att	576
Tyr	Ile	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asn	Ile	
						180		185				190				
gcc	ctg	atg	aag	ctg	aag	aag	cct	gtt	gcc	tcc	agt	gac	tac	att	cac	624
Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ile	His	
						195		200				205				
cct	gtg	tgt	ctg	ccc	gac	agg	gag	acg	gca	gcc	agc	ttg	ctc	cag	gct	672
Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	
						210		215			220					
gga	tac	aag	ggg	cgg	gtg	aca	ggc	tgg	ggc	aac	ctg	aag	gag	acg	tgg	720
Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	
					225		230			235			240			
aca	gcc	aac	gtt	ggt	aag	ggg	cag	ccc	agt	gtc	ctg	cag	gtg	gtg	aac	768
Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	Leu	Gln	Val	Val	Asn	
					245		250				255					
ctg	ccc	att	gtg	gag	cgg	ccg	gtc	tgc	aag	gac	tcc	acc	cgg	atc	cgc	816
Leu	Pro	Ile	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Cys	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Ile	Arg	
					260		265				270					
atc	act	gac	aac	atg	ttc	tgt	gct	ggt	tac	aag	cct	gat	gaa	ggg	aaa	864
Ile	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
					275		280			285						
cga	ggg	gat	gcc	tgt	gaa	ggt	gac	gct	ggg	gga	ccc	ttt	gtc	atg	aag	912
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Gly	Asp	Ala	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys	
					290		295			300						
agc	ccc	ttt	aac	aac	cgc	tgg	tat	caa	atg	ggc	atc	gtc	tca	tgg	ggt	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly	
					305		310			315			320			
gaa	ggc	tgt	gac	cgg	gat	ggg	aaa	tat	ggc	ttc	tac	aca	cat	gtg	ttc	1008
Glu	Gly	Cys	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Tyr	Gly	Phe	Tyr	Thr	His	Val	Phe	
					325		330				335					
cgc	ctg	aag	aag	tgg	ata	cag	aag	gtc	att	gat	cag	ttt	gga	gag	tag	1056
Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	Ile	Gln	Lys	Val	Ile	Asp	Gln	Phe	Gly	Glu		
					340		345				350					

<210> 22
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
100 105 110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asn Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp

225

230

235

240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
 245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
 260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
 275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
 290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
 305 310 315 320

Glut Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
 325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
 340 345 350

<210> 23

<211> 1056

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1056)

<223>

<400> 23

atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct 48
 Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
 1 5 10 15

gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag 96
 Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
 20 25 30

caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag 144
 Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
 35 40 45

tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac 192
 Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
 50 55 60

tgt	ggg	ctg	cga	cct	ctg	ttc	gag	aag	aag	tcg	ctg	gag	gac	aaa	acc	240
Cys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	
65		70								75					80	
gaa	aga	gag	ctc	ctg	gaa	tcc	tac	atc	gac	ggg	cgc	att	gtg	gag	ggc	288
Glu	Arg	Glu	Leu	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile	Asp	Gly	Arg	Ile	Val	Glu	Gly	
		85							90					95		
tcg	gat	gca	gag	atc	ggc	atg	tca	cct	tgg	cag	gtg	atg	ctt	ttc	cgg	336
Ser	Asp	Ala	Glu	Ile	Gly	Met	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Met	Leu	Phe	Arg	
		100						105						110		
aag	agt	ccc	cag	gag	ctg	ctg	tgt	ggg	gcc	agc	ctc	atc	agt	gac	cgc	384
Lys	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Leu	Cys	Gly	Ala	Ser	Leu	Ile	Ser	Asp	Arg	
		115					120						125			
tgg	gtc	ctc	acc	gcc	gcc	cac	tgc	ctc	ctg	tac	ccg	ccc	tgg	gac	aag	432
Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Leu	Tyr	Pro	Pro	Trp	Asp	Lys	
		130					135						140			
aac	ttc	acc	gag	aat	gac	ctt	ctg	gtg	cgc	att	ggc	aag	cac	tcc	cgc	480
Asn	Phe	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ile	Gly	Lys	His	Ser	Arg	
		145				150				155				160		
aca	agg	tac	gag	cga	aac	att	gaa	aag	ata	tcc	atg	ttg	gaa	aag	atc	528
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Lys	Ile	
		165					170						175			
tac	atc	cac	ccc	agg	tac	aac	tgg	cgg	gag	aac	ctg	gac	cgg	gac	att	576
Tyr	Ile	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asp	Ile	
		180					185						190			
gcc	ctg	atg	aag	ctg	aag	aag	cct	gtt	gcc	ttc	agt	gac	tac	att	cac	624
Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ile	His	
		195					200					205				
cct	gtg	tgt	ctg	ccc	gac	agg	gag	acg	gca	gcc	agc	ttg	ctc	cag	gct	672
Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	
		210				215						220				
gga	tac	aag	ggg	cgg	gtg	aca	ggc	tgg	ggc	aac	ctg	aag	gag	acg	tgg	720
Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	
		225				230			235					240		
aca	gcc	aac	gtt	ggt	aag	ggg	cag	ccc	agt	gtc	ctg	cag	gtg	gtg	aac	768
Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	Leu	Gln	Val	Val	Asn	
		245					250						255			
ctg	ccc	att	gtg	gag	cgg	ccg	gtc	tgc	aag	gac	tcc	acc	cgg	atc	cgc	816

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

atc act gac aac atg ttc tgt gct ggt tac aag cct gat gaa ggg aaa 864
Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

cga ggg gat gcc tgt gaa gct gac gct ggg gga ccc ttt gtc atg aag 912
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

agc ccc ttt aac aac cgc tgg tat caa atg ggc atc gtc tca tgg ggt 960
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc 1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag 1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

<210> 24

<211> 351

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
20 25 30

Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
35 40 45

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
50 55 60

Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
65 70 75 80

Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
85 90 95

Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg

100

105

110

Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
115 120 125

Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
130 135 140

Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
145 150 155 160

Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
165 170 175

Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
180 185 190

Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
195 200 205

Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225 230 235 240

Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
245 250 255

Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
260 265 270

Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
275 280 285

Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
290 295 300

Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305 310 315 320

Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
325 330 335

Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
340 345 350

【書類名】要約書

【要約】

【課題】 抗血栓治療薬又は抗炎症治療薬として好適なトロンビン誘導体を提供する。

【解決手段】 トロンビンにアミノ酸置換を導入し、アミノ酸置換トロンビン誘導体の中から基質分解活性が低下し、かつ基質結合能を保持したトロンビン誘導体を選択する。具体的にはB鎖203グリシン及びB鎖205セリンが置換されたトロンビン誘導体などを選択する。

【選択図】 なし

出願人履歴

0 0 0 0 0 2 0 7 1

19900823

新規登録

大阪府大阪市北区中之島3丁目6番32号

チツソ株式会社

0 0 0 2 2 4 1 0 1

19900830

新規登録

5 9 7 0 7 2 3 4 9

東京都中央区日本橋馬喰町1丁目4番16号

藤森工業株式会社